Disco reactivo para panel de función hepática Piccolo®

Servicio técnico y de atención al cliente: 800-822-2947

Febrero 2014
NP: 400-7137 Rev.: G
© 1998, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El disco reactivo para panel de función hepática Piccolo® se utiliza, junto con el analizador químico de sangre de Piccolo, para realizar determinaciones cuantitativas *in vitro* de alanina aminotransferasa, albúmina, fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa, bilirrubina directa, bilirrubina total y proteínas totales en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero en un en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo para panel de función hepática Piccolo y el analizador químico de sangre de Piccolo constituyen un sistema de diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico a diagnosticar las siguientes alteraciones:

Alanina aminotransferasa:	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis; cardiopatías.
Albúmina:	Patologías del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina:	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroideas e intestinales.
Aspartato aminotransferasa:	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral, shock.
Bilirrubina directa:	Hepatopatías; alteraciones hemolíticas, hematológicas y metabólicas, incluidas la hepatitis y la obstrucción de la vesícula biliar.
Bilirrubina total:	Hepatopatías, incluida la hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia.
Proteínas totales:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) fue medida por tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina[1,2] y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente.[3] La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue.[4] La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha propuesto como método recomendado un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado.[5]

El método desarrollado para usar con el analizador de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α–cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD^+, como se observa en el esquema de la siguiente reacción.

$$\text{L-alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato + NADH + H+} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato + NAD}^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Albúmina (ALB)
Entre los primeros métodos usados para medir la albúmina se encontraban las técnicas de fraccionamiento[6-8] y el contenido de triptofano de las globulinas.[9, 10] La realización de estos métodos es poco precisa y su especificidad es baja. Dos técnicas inmunoquímicas se consideran como métodos de tinción de referencia, pero son lentas y su coste es elevado.[11] Las técnicas de tinción son los métodos usados con mayor frecuencia para medir la albúmina. El bromcresol verde (BDG) es el más usado de los métodos de tinción, pero puede sobrestimar las concentraciones de albúmina, especialmente en los límites inferiores de los valores normales.[12] El bromcresol púrpura (BCP) es la más específica de las tinturas en uso.[13,14]

La púrpura de bromcresol (BCP), al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

$$\text{BCP + Albúmina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complejo BCP-Albúmina}$$

La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)
Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, a algunos de estos métodos espectrofotométricos de criterio de valoración o de dos puntos[15,16] se los considera obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción.[17,18] La fiabilidad de esta técnica aumentó significativamente con el uso de un tampón con ión metálico para mantener la concentración de iones magnesio y zinc en la reacción.[19] El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AFCC)[20] usa *p*-NPP como substrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento de Piccolo se modificó a partir de los métodos AACC e IFCC.[21] La fosfatasa alcalina hidroliza al *p*-NPP en un tampón con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.

$$\textit{p}\text{-Nitrofenil fosfato} \xrightarrow[Zn^{2+},\ Mg^{2+}]{\text{ALP}} \textit{p}\text{-Nitrofenol + fosfato}$$

La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método cinético de Karmen,[22] de acuerdo con la modificación de Bergmeyer.[23] El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.[23,24] Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

El AST cataliza la reacción del L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato + } \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetato + L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato + NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato + NAD}^+$$

El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST contenida en la muestra.

Bilirrubina directa (DBIL)
Van Den Bergh y Müller fueron los primeros en detectar la bilirrubina directa al observar que el pigmento de la bilis humana reaccionaba con ácido sulfanílico diazotizado en ausencia de alcohol[25]. En la actualidad, las técnicas más comúnmente utilizadas para medir la bilirrubina directa son modificaciones del método desarrollado por Malloy y Evelyn[26], que se basa en la combinación del ácido sulfanílico diazotizado y la bilirrubina para formar el cromoforo azobilirrubina. Con algunos métodos diazo se obtienen resultados poco confiables, ya que la forma no conjugada se puede medir como bilirrubina directa.[27]. A partir de la separación de la enzima bilirrubina oxidasa del *Myrothecium verrucaria* MT-1[28-30] se desarrolló un ensayo más específico para determinar la bilirrubina directa. Este método también es específico para determinar bilirrubina directa cuando la reacción se produce a pH bajo.[31,32]

En el procedimiento enzimático, el complejo soluble de bilirrubina (bilirrubina directa) es oxidado por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

$$\text{Complejo soluble} + O_2 \xrightarrow[\text{de bilirrubina}]{\text{Bilirrubina oxidasa}} \text{Biliverdina} + H_2O$$

La bilirrubina directa se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina directa y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina directa. La cantidad de bilirrubina directa contenida en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

Bilirrubina total (TBIL)
Normalmente, los niveles de bilirrubina total se medían mediante pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado.[26,33] En la actualidad, se ha desarrollado un método más nuevo y más específico que utiliza la enzima bilirrubina oxidasa.[28-30] Además de usar el método de prueba de la bilirrubina total, más específico, la fotodegradación del sustrato se minimiza con el analizador de Piccolo porque se puede analizar la muestra inmediatamente después de su obtención.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina es oxidada por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

$$\text{Bilirrubina} + O_2 \xrightarrow{\text{Bilirrubina oxidasa}} \text{Biliverdina} + H_2O$$

La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

Proteína total (TP)
El método de proteínas totales es una modificación de la reacción de Biuret, reconocida por su precisión, exactitud y especificidad.[34] Originariamente desarrollada por Riegler[35] y modificada por Weichselbaum,[36] Doumas y otros,[37] propusieron una reacción de Biuret como posible método de referencia para la determinación de proteínas totales.

En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y yoduro de potasio para impedir la precipitación de hidróxido de cobre y la autorreducción del cobre, respectivamente.[36] Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre los átomos de oxígeno carbonilo y nitrógeno amida para formar un complejo Cu-proteína coloreado.

$$\text{Proteína total} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{OH^-} \text{Complejo Cu-Proteína}$$

La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

4. Principios de la operación

Ver el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo para recibir información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos
Cada disco reactivo para panel de función hepática Piccolo contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas (se describen abajo). En cada disco se incluye un reactivo de referencia de muestra seco (que consta de tampón, surfactante, excipientes y estabilizadores) para usar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP) y aspartato aminotransferasa (AST). En el disco se incluyen muestras de referencia específicas para bilirrubina total (TBIL), bilirrubina directa (DBIL) y proteína total (TP). Cada disco reactivo contiene también un diluyente formado por surfactantes, excipientes y estabilizadores.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/Disco
L-alanina	874 µg
L-ácido aspártico	426 µg
Bilirrubina oxidasa	0,2 U
Púrpura de bromcresol	2 µg
Sulfato cúprico	134 µg
α-ácido cetoglutárico	82 µg
Lactato deshidrogenasa	0,13 U
Cloruro de magnesio	3 µg
Malato deshidrogenasa (MDH) (corazón porcino)	0,01 U
β-nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	12 µg
p-NPP	56 µg
Yoduro de potasio	28 µg
Potasio sódico tartrato	343 µg
Sulfato de zinc	3 µg
Tampones, surfactantes, excipientes y estabilizadores	

Advertencias y precauciones
- Para uso diagnóstico *in vitro*

- El envase del diluyente en el disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un disco con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Compruebe que la muestra o el control esté colocado en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las buenas prácticas de seguridad en el laboratorio cuando manipule y deseche los discos usados.[38] Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames que presentan riesgo biológico.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído ya que puede diseminar material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso en que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras dejar caer y romper un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos
Los discos de reactivo pueden ser usados directamente del refrigerador sin calentar. No deje que los discos guardados en las bolsas de aluminio selladas permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes de usarlos. Abra la bolsa de aluminio sellada, saque el disco y use de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo. Debe desechar los discos no usados en los 20 minutos siguientes a la apertura de la bolsa.

Almacenamiento
Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8°C (36-46°F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad

indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico de sangre de Piccolo.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo
Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa a la eficacia del reactivo. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo para obtener información completa sobre el uso del analizador.

7. Recolección y preparación de las muestras

Las técnicas para la obtención de la muestra se describen en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

- El tamaño mínimo necesario para la muestra es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o suero de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta el tubo de recolección con suavidad varias veces antes de transferir la muestra. **No** sacuda el tubo de recolección; esto puede provocar hemólisis.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la recolección.[39] Las muestras refrigeradas de sangre entera pueden causar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa**.[40] La muestra se puede separar en plasma o suero y almacenar en tubos de muestra con tapa a 2-8°C (36-46°F) si no se la puede analizar en 60 minutos.

- Los resultados de **bilirrubina total y bilirrubina directa** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación.[41] Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacena en un lugar oscuro por períodos que no excedan los 60 minutos. Si no se puede analizar la muestra dentro de ese período, se la debe separar en plasma o suero y almacenar en un tubo de muestra con tapa en lugar oscuro y a bajas temperaturas.[42]

- Para las muestras de sangre entera o plasma use sólo tubos de recolección de muestra evacuados con heparina litio. Para muestras de suero use tubos de recolección de muestras no evacuados con aditivos o tubos con separador para suero.

8. Procedimiento

Materiales necesarios
- Un disco reactivo para panel de función hepática Piccolo

Materiales requeridos pero no proporcionados
- Analizador químico de sangre de Piccolo

- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo)

Parámetros de prueba
- El analizador químico de sangre de Piccolo funciona a temperaturas ambiente entre 15°C y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada disco reactivo para panel de función hepática Piccolo es menor de 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37°C (98,6°F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba
La obtención completa de la muestra y los procedimientos de operación paso a paso se detallan en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

Calibrado
El analizador químico de sangre de Piccolo es calibrado por el fabricante antes de su envío. El código de barra impreso en el anillo del código de barra del disco reactivo proporciona al analizador con datos de calibración específicos del disco. Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

Control de calidad
La eficacia del analizador químico de sangre de Piccolo se puede verificar a través de la realización de controles. Los controles recomendados por Abaxis se enumeran en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles.

Consulte el manual del usuario del analizador químico de Piccolo para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

9. Resultados

El analizador químico de sangre de Piccolo calcula e imprime automáticamente las concentraciones de sustratos de la muestra. Los detalles de los cálculos del punto final y la velocidad de la reacción figuran en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

La interpretación de los resultados se detalla en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo. Los resultados se imprimen en las tarjetas de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se describen en el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo.

- El único anticoagulante **recomendado para su uso** con el sistema químico de sangre de Piccolo es **heparina litio**. Abaxis ha realizado estudios que demuestran que EDTA, fluoruro, oxalato o cualquier otro anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirán con al menos un producto químico contenido en el disco reactivo para panel de función hepática Piccolo.

- Las muestras con un hematocrito superior al 62% del volumen de eritrocitos concentrados puede dar resultados imprecisos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.

- **Cualquier resultado para una prueba particular que supere los valores de la prueba deberá ser analizado por otro método de prueba aprobado o enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra y vuélvala a evaluar en el analizador químico de sangre de Piccolo.**

  Advertencia: Extensas pruebas realizadas con el sistema químico de sangre de Piccolo demostraron que, en muy raras ocasiones, una muestra colocada en el disco reactivo puede no fluir de manera adecuada a la cámara de muestras. Debido al flujo asimétrico, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede ser analizada de nuevo con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias que interfieren con los sustratos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada obstáculo potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-A.[45]

Efectos de las sustancias endógenas

- Los obstáculos fisiológicos (hemólisis, lipemia e ictericia) causan cambios en las concentraciones informadas de algunos sustratos. Los índices de la muestra están impresos en la base de cada tarjeta de prueba para informar al usuario sobre los niveles de obstáculos presentes en cada muestra. El sistema químico de sangre de Piccolo suprime cualquier resultado que sea afectado por una interferencia superior al 10% por hemólisis, ictericia o lipemia. En el lugar del resultado, en la tarjeta se imprime “HEM”, “LIP” o “ICT” respectivamente.

Efectos de las sustancias terapéuticas

- Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al 10% en los resultados para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o productos químicos, y luego analizadas.

Tabla 2: Sustancias terapéuticas evaluadas

	Valores fisiológicos o terapéuticos[43-48] (mg/dl)	Concentración más elevada probada (mg/dl)
Sustancias endógenas		
Acetaminofeno	1-2	100
Ácido acetilsalicílico	2-10	50
Cloranfenicol	1-2,5	100
Cimetidina	0,1-1	16
Eritromicina	0,2-2	10
Isoniacida	0,1-0,7	4
Cetoprofen	—	50
Meticilina	—	100
Metotrexato	0,1	0,5
Metronidazol	0,1	5
Nafcilina	—	1
Oxacilina	—	1
Fenitoína	1-2	3

Tabla 3: Sustancias con interferencia significativa superior al 10%

	Valores fisiológicos o terapéuticos[43-48] (mg/dl)	Concentración sin interferencia significativa (mg/dl)	Interferencia[A]
Alanina aminotransferasa (ALT)			
Ácido ascórbico	0,8-1,2	20	11% aum.
Oxaloacetato	—	132	843% aum.
Albúmina (ALB)			
Acetoacetato	0,05-3,60	102	18% dism.
Ampicilina	0,5	30	12% dism.
Cafeína	0,3-1,5	10	14% dism.
Cloruro de calcio	—	20	17% dism.
Cefalotina (Keflin)	10	400	13% aum.
Ibuprofeno	0,5-4,2	50	28% aum.
α-cetoglutarato	—	5	11% dism.
Nitrofurantoína	0,2	20	13% dism.
Prolina	—	4	12% aum.
Sulfalazina	2-4	10	14% dism.
Sulfanilamida	10-15	50	12% dism.
Teofilina	1-2	20	11% dism.
Fosfatasa alcalina (ALP)			
Teofilina	1-2	20	42% dism.
Aspartato aminotransferasa (AST)	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Bilirrubina total directa (DBIL)			
Ácido ascórbico	0,8-1,2	2,5	30% dism.
Dopamina	0,3-1,5	15	50% dism.
Bilirrubina total (TBIL)			
Dopamina	—	19	55% dism.
L-dopa	—	5	17% dism.
Proteína total (TP)	Ninguno	Ninguno	Ninguno

[A] Dism.= disminución en la concentración del sustrato especificado; Aum. = aumento en la concentración del sustrato especificado

Consulte la bibliografía para obtener información adicional sobre posibles interferencias químicas.

11. Valores esperados

Se usaron muestras de un total de 125 adultos varones y mujeres, analizadas en el analizador químico de sangre de Piccolo para determinar los intervalos de referencia. Estos valores límite sólo se ofrecen como guía. Los niveles de ALP en niños en crecimiento son muy variables.[47] Se recomienda que su consultorio o institución establezca los límites normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia Piccolo

Sustrato	Intervalo de referencia	
	Unidades comunes	**Unidades SI**
Alanina amino-transferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Varón	53-128 U/l	53-128 U/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Mujer	42-141 U/l	42-141 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Bilirrubina directa (DBIL)	0-0,3 mg/dl	0-5,1 µmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Proteína total (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l

12. Características de eficacia

Linealidad
La química para cada sustrato es lineal a lo largo de los límites dinámicos enumerados a continuación, cuando el analizador químico de sangre de Piccolo se utiliza de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo).

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Sustrato	Límite dinámico	
	Unidades comunes	**Unidades SI**
Alanina aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5-2.400 U/l	5-2.400 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Bilirrubina directa (DBIL)	0,1-15 mg/dl	1,7-257 µmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Proteína total (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l

Especificidad
El límite inferior para la detección de cada sustrato es el siguiente: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; bilirrubina directa 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); bilirrubina total 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); y proteína total 2 g/dl (20 g/l).

Precisión
Para todos los ensayos se condujeron estudios de precisión siguiendo las pautas NCCLS EP5-T2.[49] Los resultados de los análisis intraseriales y de precisión total fueron determinados evaluando dos niveles de material de control. Se realizaron los controles por duplicado dos veces durante 20 días a lo largo de un período de cuatro semanas. Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión (N=80)

Sustrato	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)		
Nivel de control 1	21	21
Media	2,76	2,79
DE	13,4	13,5
% VR		
Nivel de control 2		
Media	52	52
DE	2,70	3,25
% VR	5,2	6,2
Albúmina (g/dl)		
Nivel de control 1		
Media	5,6	5,6
DE	0,09	0,11
% VR	1,7	2,1
Nivel de control 2		
Media	3,7	3,7
DE	0,07	0,11
% VR	2,0	2,9
Fosfatasa alcalina (U/l)		
Nivel de control 1		
Media	39	39
DE	1,81	2,29
% VR	4,6	5,8
Nivel de control 2		
Media	281	281
DE	4,08	8,75
% VR	1,5	3,1
Aspartato aminotransferasa (U/l)		
Nivel de control 1		
Media	47	49
DE	0,98	0,92
% VR	2,1	1,9
Nivel de control 2		
Media	145	147
DE	1,83	1,70
% VR	1,3	1,2
Bilirrubina directa (mg/dl)		
Nivel de control 1		
Media	0,4	0,4
DE	0,03	0,03
% VR	6,5	6,6
Nivel de control 2		
Media	2,2	2,2
DE	0,10	0,12
% VR	4,8	5,6

Tabla 6: Precisión (N=80) (continuación)

Sustrato	Intraserial	Total
Bilirrubina total (mg/dl)		
Nivel de control 1		
Media	0,8	0,8
DE	0,06	0,07
% VR	8,0	9,3
Nivel de control 2		
Media	5,2	5,2
DE	0,09	0,15
% VR	1,7	2,8
Proteínas totales (g/dl)		
Nivel de control 1		
Media	6,8	6,8
DE	0,05	0,08
% VR	0,8	1,2
Nivel de control 2		
Media	4,7	4,7
DE	0,09	0,09
% VR	2,0	2,0

Correlación

Las muestras de suero y de sangre entera heparinizadas de los pacientes se extrajeron de dos sitios. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo en los sitios de campo, y las muestras séricas se analizaron con el analizador de Piccolo y mediante métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el límite dinámico. Todas las muestras fueron probadas en singlicato el mismo día. En la tabla 7 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación

Sustrato	Coeficiente de correlación	Pendiente	Intercepta	VER	N	Límites de la muestra	Método de comparación
Alanina aminotransferasa	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
(U/l)	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albúmina	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax®
(g/dl)	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasa alcalina	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax®
(U/l)	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
Aspartato aminotransferasa	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax®
(U/l)	1,0	0,97	3,0	1,90	46	13-252	DAX™
Bilirrubina directa (mg/dl)	0,990	0,88	-0,1	0,08	263	0-12,8	Paramax®
Bilirrubina total	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax®
(mg/dl)	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Proteínas totales	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7-9,2	Paramax®
(g/dl)	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5-9,2	Beckman

*Las muestras séricas de pacientes hospitalizados proporcionaron un límite de muestra más amplio y, posiblemente, más útil que las muestras de sangre entera venosa de pacientes ambulatorios.

13. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950 28: 36-42.
2. Reitman S y Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol, 1957; 28: 56-63.
3. Murray, RL. Alanine aminotransferase. *En*: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, comp. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med, 1956; 91: 569-571,
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem, 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem, 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem, 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ y otros. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol, 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem, 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem, 1966; 12: 414-417.
11. Gendler, SM. Albumin. *En*: Clinical chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. LA Kaplan y Pesce AJ, comp. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 53, 1974; 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technique using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 14, 1968; 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem, 1978; 24: 80-86.
15. King, EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J, 1931; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol, 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia, 1937; 4: 217-231.
18. Fujita, H. Umber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japón, 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C y otros. Mechanism of action of $Mg2^{+}$ and $Zn2^{+}$ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble $Zn2^{+}$ and $Mg2^{+}$ alkaline phosphatase. Can J Biochem, 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW y otros. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem, 1983; 29: 751-761.
21. Bowers GN Jr y otros. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chem Acta, 1979; 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest, 1955; 34: 131-133.
23. Bergmeyer y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem, 1977; 23: 887-899.
24. Bergmeyer y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem, 1978; 24: 720-721.
25. Van Den Bergh AAH, Müller P. Uber eine Direkte und eine indirekte Diazoreaktion auf Bilirubin. Biochem Z, 1916; 77: 90-103.
26. Malloy, HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem, 1937; 119: 481-490.
27. Doumas BT, Wu T-W. The measurement of bilirubin fractions in serum. Crit Rev Clin Lab Sci, 1991; 28: 415-445.
28. Murao S y Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by Myrothecium verrucaria MT-1. Agric Biol Chem, 1981; 45: 2383-2384.
29. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem, 1984; 30: 971. (Abstract)
30. Perry B y otros. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem, 1986; 32: 329-332.
31. Doumas BT y otros. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem, 1986; 32: 1349-1353.
32. Otsuji S y otros. A new enzymatic approach for estimating total and direct bilirubin. Clin Biochem, 1988; 21: 81-110.

13. Bibliografía (continuación)

33. Meites, S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *En*: Faulkner WR y Meites S, comp. Selected methods of clinical chemistry. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry, 1982; 9: 119-124.
34. Koller A y Kaplan LA. Total serum protein. *En:* Clinical chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nded. Kaplan LA, Pesce AP, comp. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989: 1057-1060.
35. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem, 1914; 53: 242-245.
36. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path, 1946; 16: 40-49.
37. Doumas BT y otros. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem, 1981; 27: 1642-1650.
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. Documento POL1-T2 del NCCLS Wayne, PA: NCCLS, 1992.
39. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline, 2nd ed. Documento H18-Tdel NCCLS. Wayne, PA: NCCLS, 1988.
40. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem, 1988; 34: 2111-2114.
41. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *En*: Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation, 2nd ed. Kaplan LA y Pesce AP, comp. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989:1009-1015.
42. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical chemistry: Principles and techniques, 2nd ed. Nueva York: Harper and Row; 1974: 417-421, 1058-1059.
43. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *En:* Gilman AG y otros, comp. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8ª ed. Nueva York: McGraw-Hill, Inc., 1990; 1650-1735.
44. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *En*: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA y Ashwood ER, comp. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994; 735-896.
45. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. Documento EP7-A del NCCLS. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
46. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. *En*: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, comp. Philadelphia. WB Saunders Company, 1999: 1788-1846.
47. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Appendix. *En:* Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, comp. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994: 2161-2217.
48. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices, 2nd ed.; pautas aprobadas. Documento EP5-A del NCCLS. Wayne, PA: NCCLS, 1999.